

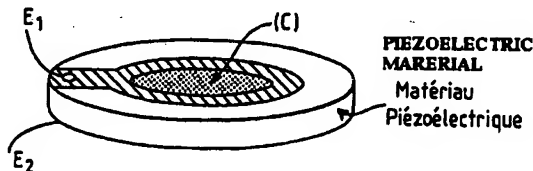


## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

|  |  |   |  |
|--|--|---|--|
| (51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> :<br>G01N 29/00, 29/02   |  | A1  | (11) Numéro de publication internationale: <b>WO 96/26435</b>    |
|  |  |   | (43) Date de publication internationale: 29 août 1996 (29.08.96) |
| (21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR96/00267   |  | (81) Etats désignés: JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  |  |
| (30) Données relatives à la priorité:<br>95/01971 21 février 1995 (21.02.95) FR  |  | Publiée<br><i>Avec rapport de recherche internationale.</i><br><i>Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</i> |  |
| (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): THOMSON-CSF (FR/FR); 173, boulevard Haussmann, 75008 Paris (FR).   |  |   |  |
| (72) Inventeur; et<br>(75) Inventeur/Déposant (US seulement): LIPSKIER, Jean-François (FR/FR); Thomson-CSF SCPI, Boite postale 329, F-92402 Courbevoie Cédex (FR). |  |   |  |
| (74) Mandataire: THOMSON-CSF SCPI; Boite postale 329, F-94202 Courbevoie Cédex (FR).   |  |   |  |

(54) Title: HIGHLY SELECTIVE CHEMICAL SENSOR

Titre: CAPTEUR CHIMIQUE HAUTEMENT SELECTIF



## (57) Abstract

A highly selective chemical sensor including an acoustic wave transducer and a sensitive layer of so-called "molecular imprint" material, i.e. a cross-linked macroporous material having cavities with a steric and functional arrangement specifically suited to capturing molecular and/or ionic entities.

## (57) Abrégé

L'invention concerne un capteur chimique hautement sélectif comprenant un transducteur à ondes acoustiques et une couche sensible dite à "empreintes moléculaires". Il s'agit de matériau macroporeux réticulé présentant des cavités dont la configuration stérique et fonctionnelle est spécifiquement adaptée à la capture d'entités moléculaires et/ou ioniques.

# UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

|    |                           |    |  |    |                       |
|----|---------------------------|----|--|----|-----------------------|
| AT | Arménie                   | GB | Royaume-Uni                                | MW | Malawi                |
| AT | Autriche                  | GE | Géorgie                                    | MX | Mexique               |
| AU | Australie                 | GN | Guinée                                     | NE | Niger                 |
| BB | Barbade                   | GR | Grèce                                      | NL | Pays-Bas              |
| BE | Belgique                  | HU | Hongrie                                    | NO | Norvège               |
| BF | Burkina Faso              | IE | Irlande                                    | NZ | Nouvelle-Zélande      |
| BG | Bulgarie                  | IT | Italie                                     | PL | Pologne               |
| BJ | Bénin                     | JP | Japon                                      | PT | Portugal              |
| BR | Brazil                    | KE | Kenya                                      | RO | Roumanie              |
| BY | Bélarus                   | KG | Kirghizistan                               | RU | Fédération de Russie  |
| CA | Canada                    | KP | République populaire démocratique de Corée | SD | Soudan                |
| CF | République centrafricaine | KR | République de Corée                        | SE | Suède                 |
| CG | Congo                     | KZ | Kazakhstan                                 | SG | Singapour             |
| CH | Suisse                    | LI | Liechtenstein                              | SI | Slovenie              |
| CI | Côte d'Ivoire             | LK | Sri Lanka                                  | SK | Slovaquie             |
| CM | Cameroon                  | LR | Libéria                                    | SN | Sénégal               |
| CN | Chine                     | LT | Lituanie                                   | SZ | Swaziland             |
| CS | Tchécoslovaquie           | LU | Luxembourg                                 | TD | Tchad                 |
| CZ | République tchèque        | LV | Lettonie                                   | TG | Togo                  |
| DE | Allemagne                 | MC | Monaco                                     | TJ | Tadjikistan           |
| DK | Danemark                  | MD | République de Moldova                      | TT | Trinité-et-Tobago     |
| EE | Estonie                   | MG | Madagascar                                 | UA | Ukraine               |
| ES | Espagne                   | ML | Mali                                       | UG | Ouganda               |
| FI | Finlande                  | MN | Montgolie                                  | US | Etats-Unis d'Amérique |
| FR | France                    | MR | Mauritanie                                 | UZ | Ouzbékistan           |
| GA | Gabon                     |    |  | VN | Viet Nam              |

## CAPTEUR CHIMIQUE HAUTEMENT SELECTIF

Le domaine de l'invention est celui des capteurs chimiques et plus précisément celui des capteurs chimiques hautement sélectifs, capables de renseigner  
5 sur la présence d'une espèce chimique particulière (encore appelée analyte) dans un milieu donné.

De façon générale, un capteur chimique est constitué d'une couche sensible, capable de fixer l'analyte de façon plus ou moins réversible et sélective et d'un transducteur dont le rôle est de convertir la variation d'un paramètre physico-  
10 chimique lors de la fixation de l'analyte en un signal généralement électrique. La sensibilité du capteur est définie par la limite inférieure de détection, c'est-à-dire la quantité ou la concentration minimale d'analyte induisant un signal identifiable par rapport au bruit. La sélectivité du capteur correspond à son aptitude à discriminer l'analyte par rapport aux autres espèces chimiques pouvant être présentes dans le  
15 milieu. Un capteur très sélectif est ainsi caractérisé par le fait qu'à concentrations identiques, le signal induit par la présence de l'analyte est beaucoup plus intense que le signal induit par tout autre espèce chimique. L'une des principales difficultés rencontrées dans ce domaine est de réaliser des capteurs qui soient à la fois sensibles et hautement sélectifs. De tels capteurs chimiques peuvent être appliqués notamment à  
20 la détection qualitative et quantitative de polluants, d'agents toxiques, ou bien encore au contrôle de procédé dans l'industrie chimique ou pharmaceutique, au diagnostic biologique ...

Actuellement, il existe des capteurs chimiques extrêmement sélectifs grâce à une couche sensible contenant des molécules d'origine biologique telles que des  
25 protéines (enzymes, anticorps), des acides nucléiques (ADN ou ARN), voire des micro-organismes entiers. Le principal inconvénient de tels capteurs réside dans leur fragilité excessive qui limite sérieusement les conditions de fonctionnement et de conservation de ces capteurs et qui réduit fortement leur durée de vie. Par ailleurs les coûts de développement et de production de tels capteurs restent en général très  
30 élevés.

Parallèlement aux molécules biologiques, il existe également des molécules organiques synthétiques moins fragiles pouvant être utilisées dans la couche sensible. Il peut s'agir notamment, d'éthers-couronnes, de cryptands, de carcérands, de sphérands, de poly-cyclophanes ou bien encore de cyclodextrines. La structure  
35 tridimensionnelle de ces molécules présente en général une cavité. La taille et la distribution de densité électronique de cette cavité sont telles qu'une espèce chimique

particulière qui y est incluse peut se trouver stabilisée par rapport au milieu extérieur. La synthèse de ces molécules "hôtes" est toutefois particulièrement complexe, et d'un rendement très faible. Par ailleurs, il n'est pas toujours possible de construire une cavité adaptée à la reconnaissance de l'analyte recherché. Enfin, ces molécules ne sont pas utilisables directement, mais doivent être soit attachées chimiquement à la surface du transducteur, soit incorporées dans une matrice polymère perméable à l'analyte. Ceci implique le plus souvent un aménagement fonctionnel supplémentaire, donc de nouvelles étapes de synthèse.

Dans ce contexte, l'invention propose d'utiliser des matériaux apparus récemment dits "à empreintes moléculaires" ayant une "mémoire" sélective des molécules qui ont été utilisées, pour en construire l'architecture avec des sites très spécifiques. Il s'agit de matériaux obtenus selon le principe suivant :

- dans un premier temps l'incubation d'entités G' moléculaires ou ioniques servant de gabarit en présence de monomères polymérisables et d'agents réticulants est effectuée pour aboutir au développement d'interactions complémentaires ;
- dans un second temps on polymérise autour du complexe monomères-gabarit le mélange précédent ;
- enfin on procède à l'extraction des entités G'.

A l'issue de cette dernière étape, on obtient un matériau macroporeux réticulé présentant des cavités dont la configuration stérique et fonctionnelle est parfaitement adaptée pour la liaison ultérieure de nouvelles molécules G identiques ou très similaires aux entités G', avec une affinité et une sélectivité proches de celles offertes par les systèmes biologiques.

Plus précisément, l'invention porte sur un capteur chimique utilisant de tels matériaux et une détection par ondes acoustiques dont la propagation peut être affectée dans un milieu ou à la surface d'un milieu lorsque ce dernier change, et plus particulièrement dans le cas présent, lorsque le matériau dit "à empreintes moléculaires" a piégé des molécules de type G.

L'invention a ainsi pour objet un capteur chimique sélectif d'entité G, comprenant un transducteur à ondes acoustiques et une couche sensible, caractérisé en ce que la couche sensible est constituée d'un matériau réticulé, macroporeux, présentant des cavités dont la configuration stérique et fonctionnelle est  
5 spécifiquement adaptée à la capture d'entité G, au sein des cavités.

De préférence, le matériau réticulé macroporeux est un polymère organique hautement réticulé, obtenu par polymérisation d'une composition comprenant un ou plusieurs monomères réticulables, en présence d'entités G ou G' (voisines de G), de type moléculaires et/ou ioniques, ou une association de molécules  
10 et/ou d'ions de stoechiométrie donnée.

Le transducteur du capteur chimique selon l'invention peut avantageusement être un transducteur à ondes de volume, comprenant un matériau piézoélectrique inséré entre deux électrodes, au moins une des électrodes étant recouverte de la couche sensible.

15 Le transducteur du capteur chimique selon l'invention peut également avantageusement être un transducteur à ondes de surface :

Dans ce cas le transducteur peut comprendre un matériau piézoélectrique sur lequel sont déposées deux séries d'électrodes interdigitées, séparées par une surface (S), la couche sensible étant déposée au niveau de la surface (S).

20 Pour favoriser l'adhérence de la couche sensible sur la surface du matériau piézoélectrique ou sur la surface d'une électrode (dans le cas de transducteur à ondes de volume), ladite surface peut être préalablement recouverte d'une couche C2 permettant de créer des liaisons spécifiques à l'interface couche sensible/couche support.

25 L'invention a aussi pour objet un procédé de réalisation, d'une association de capteurs chimiques caractérisé en ce qu'il comporte, à la surface d'un substrat (S) permettant la propagation d'ondes acoustiques :

- la réalisation, à travers un premier masque laissant libre une première zone (Z1) du substrat, d'un premier élément de matériau (I) à empreintes moléculaires  
30 ;

- la réalisation, à travers un deuxième masque laissant libre la deuxième zone (Z2) du substrat, d'un deuxième élément de matériau (II) réticulé en l'absence de molécule gabarit ;

- la réalisation de part et d'autre de chaque zone (Z1, Z2) de moyens  
35 inducteurs et/ou récepteurs d'onde acoustique.

Dans une variante de procédé selon l'invention, ce dernier comporte les étapes suivantes :

- a) réalisation sur un substrat (S) permettant la propagation d'ondes acoustiques d'une alternance d'une première couche de résine (R1) pour  
5 photolithographie, d'une couche métallique (M1) et d'une deuxième couche de résine (R2) pour photolithographie ;
- b) élimination de la deuxième couche de résine dans une première zone (Z1) ;
- c) gravure de la couche métallique dans la première zone (Z1) ;
- 10 d) attaque de la première couche de résine dans la première zone (Z1) et éventuellement du reste de la deuxième couche de résine ;
- e) mise à nu du substrat dans la première zone lors de l'attaque de la première couche de résine ;
- f) réalisation sur le substrat dans la première zone d'un premier élément (I)  
15 en matériau à empreintes moléculaires ;
- g) réalisation d'une troisième couche de résine (R3) ;
- h) élimination de la troisième couche de résine (R3) dans une deuxième zone (Z2) ;
- i) gravure de la couche métallique dans la deuxième zone (Z2) ;
- 20 j) attaque de la première couche de résine dans la deuxième zone et éventuellement du reste de la troisième couche de résine ;
- k) mise à nu du substrat dans la deuxième zone lors de l'attaque de la première couche de résine ;
- l) réalisation sur le substrat dans la deuxième zone d'un deuxième élément  
25 (II) de matériau réticulé en l'absence de molécule gabarit ;
- m) élimination de la couche métallique (M1) et de la première couche de résine (R1).

Le deuxième élément (II) peut avantageusement être en matériau de composition identique à celle du premier élément (I), mais il est polymérisé et réticulé  
30 en l'absence de molécule gabarit.

L'invention sera mieux comprise et d'autres avantages apparaîtront à la lecture de la description qui va suivre, donnée à titre non limitatif, et grâce aux figures annexées parmi lesquelles :

- la figure 1 illustre un exemple de capteur selon l'invention, utilisant un  
35 transducteur à ondes de volume ;

- la figure 2a illustre un exemple de capteur selon l'invention utilisant un transducteur à ondes de surface, type onde de Rayleigh ;
  - la figure 2b illustre la propagation des ondes de Rayleigh ;
  - la figure 3 illustre un autre exemple de capteur selon l'invention utilisant
- 5 un transducteur à ondes de surface, type ondes de Lamb ;
- la figure 4a illustre un exemple de capteur selon l'invention utilisant un transducteur à ondes de surface, type ondes de Love ;
  - la figure 4b illustre la propagation des ondes de Love dans la couche intermédiaire ;
- 10 - la figure 5 illustre un exemple de capteur selon l'invention dans lequel des ondes acoustiques de type ondes de Love sont obtenues grâce à la présence d'une structure réseau ;
- \* la figure 5a schématise le réseau  $rm$  et les séries d'électrodes  $SE_1$  et  $SE_2$  ;
- 15 \* la figure 5b schématise une coupe de ce capteur ;
- la figure 6 schématise l'association de deux transducteurs identiques dont un seulement peut piéger des entités  $G$  ;
  - la figure 7 illustre un exemple de procédé de réalisation permettant l'obtention de l'association décrite en figure 6.
- 20 Le capteur chimique selon l'invention résulte de l'association d'une couche sensible de matériaux à empreintes moléculaires et d'un transducteur à ondes acoustiques. Ces matériaux ont l'avantage de présenter une très bonne stabilité mécanique, thermique et chimique et une mise en oeuvre particulièrement simple et peu coûteuse par rapport aux matériaux utilisés dans les bio capteurs. Ainsi ils
- 25 peuvent être utilisés sur une grande plage de température et ont le grand intérêt de pouvoir être utilisés aussi bien en phase aqueuse, organique ou bien encore à l'air ambiant.
- L'association d'un matériau à empreintes moléculaires et d'un transducteur acoustique permet d'élaborer un capteur particulièrement sensible dans la mesure où
- 30 une variation de masse (capture ou non des molécules) induit nécessairement une variation au niveau de la propagation des ondes acoustiques, alors que certaines propriétés physiques pourraient ne pas être modifiées (propriétés électrochimiques, polarisation de la lumière, etc...). Par ailleurs, les dispositifs à ondes acoustiques sont généralement robustes, sensibles, peu coûteux.

Dans une première variante de l'invention, le capteur chimique comprend un transducteur à ondes de volume, constitué d'un matériau piézoélectrique, il peut s'agir d'une plaquette de quartz, ou de tout autre matériau piézoélectrique, muni de deux électrodes, comme l'illustre la figure 1. Le matériau à empreintes moléculaires est disposé sur l'une des électrodes, ou même sur les deux. Le dispositif ainsi élaboré constitue un résonateur dont la fréquence peut être mesurée. L'absorption ou l'adsorption des molécules que l'on cherche à détecter sélectivement, au sein du matériau hôte se traduit par une augmentation de masse  $\Delta m$  et conduit à une variation de fréquence de résonance du résonateur ainsi constitué.

Cette variation de fréquence est donnée en première approximation par l'équation de Sauerbrey suivante :

$$\Delta F = -2F^2 \Delta m / \rho_q v_q A$$

avec F fréquence du résonateur (Hz)

$\rho_q$  densité du matériau piézoélectrique

$v_q$  vitesse de propagation des ondes acoustiques (m/s)

A aire de la surface sensible (m<sup>2</sup>)

Dans une seconde variante de l'invention, le capteur chimique comprend un transducteur à ondes de surface constitué d'un matériau piézoélectrique, sur lequel sont déposées deux séries d'électrodes interdigitées SE<sub>1</sub> et SE<sub>2</sub>, entre lesquelles est déposée la couche de matériau sensible à empreintes moléculaires.

L'ensemble constitue une ligne à retard, les ondes acoustiques émises par la première série d'électrodes SE<sub>1</sub> se propagent jusqu'à la seconde série d'électrodes SE<sub>2</sub> avec un certain retard, se traduisant par une variation de phase. En recombinaison le signal de sortie et le signal d'entrée, le signal de sortie étant amplifié et mis en phase avec le signal d'entrée, on réalise un circuit oscillant ayant une fréquence de résonance caractéristique  $f_1$ . Lorsque les conditions de propagation des ondes acoustiques de surface sont modifiées entre les deux séries d'électrodes, la variation de phase induite n'est plus la même, et le circuit oscillant ne résonne plus à la même fréquence  $f_1$ , mais résonne alors à la fréquence  $f_1$ .

Dans le capteur selon l'invention, l'analyse de la variation de fréquence permet de suivre la capture de molécules, par la couche sensible. En effet, cette capture se traduit par une variation de masse qui génère une modification de la propagation des ondes acoustiques de surface.



Notons que les ondes de Rayleigh, se propageant à la surface d'un milieu piézoélectrique sont amorties dans les milieux liquides. Aussi lorsqu'un capteur chimique à ondes de surface de type ondes de Rayleigh est utilisé en solution, il est souhaitable de procéder en plusieurs temps :

- 5 - dans un premier temps, on détermine la fréquence de résonance de l'oscillateur à sec ;
- puis on met le capteur en équilibre avec la solution à analyser ;
- on extrait le capteur, on le rince avec une petite quantité de solvant pur afin d'éliminer les molécules adsorbées de façon non spécifique ;
- 10 - on sèche le capteur sous un jet de gaz inerte ;
- on mesure la variation de fréquence résultant.

Le capteur chimique selon l'invention peut avantageusement comprendre un transducteur à ondes de surface type ondes de Lamb générées par la présence d'une faible épaisseur de matériau piézoélectrique. La couche sensible peut être  
15 déposée à la surface du film mince de matériau piézoélectrique côté séries d'électrodes ou bien côté opposé à la série d'électrodes. Cette dernière variante présente l'avantage de permettre d'encapsuler l'ensemble du dispositif de façon que seul le matériau à empreintes moléculaires soit en contact avec le milieu à analyser. Ainsi les électrodes métalliques, le matériau piézoélectrique et éventuellement l'électronique associée sont  
20 protégées contre des agressions chimiques qui pourraient se produire au contact de ce milieu.

La figure 3 illustre un exemple de dispositif obtenu par gravure anisotrope en face arrière d'un substrat de silicium sur lequel on a préalablement déposé une  
couche d'arrêt d'attaque de nitrure de silicium et une couche de matériau  
25 piézoélectrique d'oxyde de zinc ou de nitrure d'aluminium, séparées par un film d'aluminium. L'épaisseur de la membrane ainsi réalisée est de l'ordre de 3  $\mu\text{m}$ .

Selon une autre variante de l'invention, le capteur chimique comprend un transducteur à ondes acoustiques de surface type ondes de Love, se propageant au sein d'un matériau intermédiaire (couche C1) situé entre le matériau piézoélectrique et  
30 la couche sensible (C), matériau intermédiaire dans lequel la vitesse de propagation des ondes acoustiques est inférieure à celle des ondes acoustiques dans le matériau piézoélectrique. Ce matériau intermédiaire peut typiquement être de la silice, de l'or, de l'aluminium (Stevenson, A.C. ; Gizeli, F ; Goddard, N.J. and Lowe C.R., Sens. Actuators B., 13-14 (1993), 636-637) (figure 4a et figure 4b).

La couche intermédiaire peut être remplacée par une structure réseau métallique utilisée pour confiner l'onde acoustique à la surface du matériau piézoélectrique. Un tel dispositif est représenté schématiquement sur les figures 5a et 5b. Dans ce cas, une très fine couche de silice peut être déposée sur le matériau piézoélectrique sur lequel ont été préalablement réalisées les deux séries d'électrodes interdigitées ( $SE_1$ ,  $SE_2$ ) ainsi que la structure réseau (rm). Cette couche de silice peut être obtenue par pulvérisation ou par dépôt chimique en phase vapeur assisté par plasma, elle a pour fonction de favoriser l'adhérence de la couche sensible.

Afin de s'affranchir d'effets parasites, liés par exemple à des fluctuations de température, il est généralement avantageux d'associer deux dispositifs de transduction identiques dont l'un seulement est revêtu d'une couche sensible, et d'effectuer une mesure différentielle. Dans le cas présent, un avantage supplémentaire peut être obtenu, selon la figure 6, en effectuant une mesure différentielle sur deux transducteurs identiques, excepté que l'un est revêtu d'un matériau à empreinte moléculaire (matériau I), et que l'autre est revêtu d'un matériau de composition identique, polymérisé et réticulé en l'absence de molécule gabarit (matériau II). En effet, un matériau à empreintes moléculaires peut présenter, outre les sites de fixation spécifiquement adaptés à l'analyte à détecter, des sites non spécifiques susceptibles de fixer d'autres molécules. En revanche, le matériau II ne présente que des sites non spécifiques. On peut donc ainsi soustraire la perturbation qui pourrait être due à des molécules autres que l'analyte, se fixant sur la couche sensible par des interactions non spécifiques.

Enfin, on peut avoir avantage à associer plusieurs transducteurs revêtus de divers matériaux à empreintes moléculaires afin de constituer un système adapté à la détection et à la quantification d'une pluralité d'analytes différents.

De façon générale, les matériaux à empreintes moléculaires sont de préférence mis en oeuvre sous la forme de films. Ces films peuvent avantageusement être réalisés par polymérisation in-situ, à partir d'un mélange liquide comprenant la molécule servant de gabarit (G), un (ou plusieurs) monomère(s) fonctionnel(s) polymérisable(s) ou polycondensable(s) (M), un (ou plusieurs) agent(s) de réticulation (R), un (ou plusieurs) amorceur(s) de polymérisation (A), ces divers composants étant éventuellement dispersés dans un solvant. Ledit mélange peut alors être déposé par centrifugation ou par tout autre moyen propre à obtenir, après évaporation du solvant le cas échéant, un dépôt uniforme des réactifs. La polymérisation peut être effectuée par voie thermique, ou mieux encore, par voie photochimique. Cette dernière

approche offre l'avantage d'être plus rapide, et de pouvoir être conduite à des températures modérées, ce qui limite les risques de dégradation de la molécule gabarit.

La molécule (G) servant de gabarit peut typiquement être un ion, une  
5 molécule organique d'origine biologique ou synthétique, un polypeptide, un polynucléotide, un polysaccharide, ou toute autre espèce chimique que l'on peut avoir intérêt à détecter de façon sélective.

Les monomères fonctionnels (M) sont de préférence des molécules comportant au moins un fragment susceptible d'entrer dans une réaction de  
10 polymérisation ou de polycondensation, et au moins un fragment susceptible d'établir une liaison hydrogène, une liaison ionique, une liaison de coordination, une liaison covalente réversible, ou tout autre type de liaison réversible et d'énergie suffisante, avec la molécule gabarit. L'acide acrylique, l'acide méthacrylique, l'acide itaconique, l'acide acrylamido-2 méthyl-2 propanesulfonique-1, la N-vinyl pyrrolidone, l'acrylate  
15 d'hydroxy-2 éthyle ou d'hydroxy-2 propyle, l'acrylate d'aza-1 hydroxyméthyl-5 dioxabicyclo-3,7 (3.3.0) octane, les vinyl pyridines, l'acide vinylacétique, l'acide vinyl-4 phényl boronique, sont des exemples de tels monomères fonctionnels.

Les agents de réticulation (R) sont de préférence des molécules présentant au moins deux groupements polymérisables ou polycondensables, compatibles avec  
20 les monomères fonctionnels. Le diacrylate ou le diméthacrylate d'éthylèneglycol, le diacrylate de butane-1,4 diol, le bis-(N,N'-acrylamido)-1,2 éthane, le divinyl-1,4 benzène, le triacrylate ou le triméthacrylate de triméthylpropane (éthyl-2 hydroxyméthyl-2 propane-1,3 diol), le triacrylate de pentaérythritol, sont des exemples d'agents réticulants donnés de façon non limitative.

25 L'amorceur de polymérisation est une espèce chimique susceptible de former une ou plusieurs espèces secondaires actives, soit thermiquement, soit sous l'influence d'un rayonnement. De tels amorceurs sont bien connus de l'homme de l'art. A titre d'exemples, on peut mentionner :

- des amorceurs de polymérisation radicalaire tels que les azo-bis nitriles,  
30 les acétophénones substituées, les benzoïnes, les benzoyl oximes, les phosphines-oxydes, les peresters ;

- des amorceurs de polymérisation cationique tels que les sels d'aryldiazonium ou les sels d'onium, les dérivés du thiapyrilium, les sels de ferrocenium.

Afin d'améliorer l'adhérence du matériau à empreinte moléculaire, la surface du transducteur peut avantageusement être fonctionnalisée préalablement au dépôt, le but de cette opération étant de permettre, ou de favoriser l'établissement de liaisons covalentes entre les atomes de la surface du transducteur et les molécules du revêtement. Lorsque la surface à fonctionnaliser est constituée de silice, de nitrure ou d'oxynitrure de silicium, de niobate de lithium, d'oxyde d'aluminium, de titane, de zirconium, des silanes de formule générale  $R_nSiX_{(n-4)}$ , où X est un groupement hydrolysable (typiquement un groupement alkoxy, acyloxy, amine ou un atome de chlore) et R un groupement organique non hydrolysable présentant une fonction susceptible de réagir avec les monomères M, peuvent être utilisés comme agents de couplage. A titre d'exemple, si le polymère à déposer est à base de monomères acryliques, le N-(acryloxy-3 hydroxy-2 propyl) amino-3 propyltriethoxysilane, le méthacryloxy-3, triméthoxypropyl silane ou le méthacryloxy-3 triéthoxypropyl silane peuvent être employés. Une surface d'or peut être fonctionnalisée en utilisant des agents de couplage de type RSH ou RS-SR' où R et R' sont des groupements organiques non hydrolysables, présentant si nécessaire une fonction susceptible de réagir avec les monomères M. Le disulfure de méthacryloyloxy-2 éthyle et de méthyle est un exemple d'agent de type RS-SR' présentant un groupement organique non hydrolysable et polymérisable en présence de monomères M de type acrylique. L'hydroxy-11 undécane-thiol est un exemple d'agent de type RSH où R est un groupement organique non hydrolysable et non polymérisable ; cet agent est connu pour favoriser l'adhésion de polymères acryliques sur une surface d'or (Konstadinidis, K. ; Evans, J.F. ; Tirrell, M. and Nuzzo, R., Polym. Prepr. 31 (2), 525-6 (1990)).

#### Exemple 1

Un transducteur à ondes acoustiques de volume est réalisé à partir d'un cristal de quartz AT cylindrique de 16 mm de diamètre. Une électrode d'or de 9 mm de diamètre, est déposée par pulvérisation sur chacune des bases du cylindre, de façon à réaliser un résonateur oscillant à 6 MHz. L'ensemble est immergé pendant 24 h dans une solution à 1mM de disulfure de méthacryloyloxy-2 éthyle et de méthyle (préparé selon la méthode décrite par Ederlen et al. (Ederlen, C. ; Häussling, L. ; Naumann, R. ; Ringsdorf, H. ; Wolf, H. ; Ynag, J. Langmuir (1994)), 10, 1246-1250) dans le chloroforme, puis rincé au chloroforme et séché. Une goutte d'une solution comprenant typiquement 5 mmol d'atrazine, 10 mmol de méthacrylate de N, N-diméthylaminoéthyle, 10 mmol d'acide méthacrylique, 60 mmol de diméthacrylate d'éthylèneglycol, et 140 mg de 2,2'-azobis (2,4-diméthylvaléronitrile) dans 15 ml de

chloroforme distillé, désaéré et réfrigéré à 4°C, est déposée sur la surface fonctionnalisée de l'une des électrodes. Une lame de verre préalablement enduite d'une formulation à base de silicone (de type Petrarch<sup>TM</sup> Glasselad<sup>TM</sup> 6C), est déposée sur la goutte de façon à former un film homogène. Le dispositif est placé dans une étuve ventilée à 45°C pendant 15 h. La lame de verre est alors ôtée et le dispositif est lavé à plusieurs reprises, alternativement avec une solution d'acide acétique à 20 % dans le méthanol, enfin avec du méthanol pur, et finalement séché sous un flux d'argon. Le résonateur est inséré dans la boucle de rétroaction d'un amplificateur à gain variable. La valeur du gain nécessaire pour maintenir l'oscillation et la fréquence de résonance sont mesurées simultanément. L'ensemble constitue un capteur adapté à la détection de l'atrazine, un herbicide couramment utilisé.

#### Exemple 2

Un transducteur est constitué de deux lignes à retard à ondes de Love, obtenues par dépôt d'électrodes métalliques en peignes interdigités (aluminium évaporé, épaisseur 2500 Å, 50 doigts par électrode, ouverture 80 λ, distance centre à centre 125 λ) sur un substrat en quartz ST, suivi du dépôt d'une couche de silice SiO<sub>2</sub> par PECVD. L'orientation du substrat est choisie de telle sorte que le mode recherché se propage dans le plan YZ, avec une polarisation parallèle à l'axe X. L'épaisseur de la couche de silice est de 1,48 μm. La longueur d'onde λ est de 32 μm. Chaque ligne à retard est insérée dans la boucle de rétroaction d'un amplificateur à gain variable, muni d'un dispositif de contrôle automatique du gain par référence à une référence externe. La surface de l'une de ces lignes est rendue hydrophile, puis traitée par le méthacryloxypropyl triméthoxysilane en présence de triéthylamine, de façon à greffer des groupements méthacryliques en surface. Le reste du transducteur est protégé par une résine de masquage, du type couramment employé en photolithographie, pendant cette opération et les suivantes, afin de délimiter la zone à traiter. Une goutte d'une solution de composition identique à celle de l'exemple précédent est déposée sur la zone fonctionnalisée. Une lamelle de verre préalablement enduite d'une formulation à base de silicone (de type Petrarch<sup>TM</sup> Glasselad<sup>TM</sup> 6C), est déposée comme précédemment sur la goutte de façon à former un film homogène. La suite du traitement s'effectue comme dans l'exemple précédent. La fabrication est achevée en éliminant la résine ayant servi à protéger les zones devant rester nues, selon la méthode usuelle de dissolution dans l'acétone à chaud.

### Exemple 3

Un dispositif tel que représenté sur la figure 6 peut être réalisé à l'aide de la succession d'étapes décrite sur la figure 7. Le substrat comporte deux lignes à retard, qui sont revêtues de matériaux différents C et C' dont l'un au moins est un matériau à empreintes moléculaires. A chaque ligne à retard sont associées des électrodes interdigitées, SE<sub>1</sub>-SE<sub>2</sub> pour la ligne à retard comportant le matériau C et SE<sub>1</sub>'-SE<sub>2</sub>' pour la ligne à retard comportant le matériau C'. Un procédé de réalisation de ce dispositif peut être le suivant :

- Les deux lignes sont initialement recouvertes de deux couches de résine positive R1, R2 pour la photolithographie (type Shipley Microposit<sup>TM</sup>), séparées par une couche M1 de 1000 Å d'aluminium déposé par évaporation. L'aluminium est mis à nu et gravé au-dessus de la première ligne à retard (étapes a) à c)). Une seconde phase de photolithographie à travers le masque ainsi formé permet de mettre à nu le substrat au niveau de la première ligne à retard (étapes d et e). Une couche de matériau I (matériau à empreintes moléculaires, trame sombre sur la figure) est réalisée comme dans l'exemple précédent (étape f)). Cette couche est découpée par gravure ionique réactive (Reactive Ion Etching - RIE), jusqu'au niveau de l'aluminium (étape g)). Une nouvelle couche de résine R3 est déposée (étape h)), et l'ensemble du processus est reproduit (étapes i) à o)), afin de réaliser le dépôt du matériau II (trame claire sur la figure). Ce dernier peut être un matériau de composition identique au matériau I, mais réticulé en l'absence de molécule gabarit, et ne présentant donc pas de sites de fixation spécifiques. Il peut également s'agir d'un autre matériau à empreintes moléculaires. Les étapes i) à o) peuvent être reproduites autant de fois que nécessaire pour réaliser un dispositif multi-capteurs. La fabrication est achevée en éliminant la couche de résine résiduelle selon la méthode usuelle (dissolution dans l'acétone à chaud). Le film d'aluminium est également éliminé au cours de cette opération.

## REVENDEICATIONS

1. Capteur chimique sélectif d'entité G comprenant un transducteur à ondes acoustiques et une couche sensible (C), caractérisé en ce que la couche sensible  
5 est constituée d'un matériau à empreintes moléculaires, macroporeux, réticulé présentant des cavités dont la configuration stérique et fonctionnelle est spécifiquement adaptée à la capture d'entités G au sein des cavités.
2. Capteur chimique selon la revendication 1, caractérisé en ce que le matériau à empreintes moléculaires est un polymère organique hautement réticulé,  
10 obtenu par polymérisation d'une composition comprenant un ou plusieurs monomères réticulables en présence d'entités G' dont la structure chimique est voisine ou identique à celle des entités G.
3. Capteur chimique selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que les entités G' sont des molécules ou des ions ou une association de molécules  
15 et/ou d'ions de stoechiométrie donnée.
4. Capteur chimique selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le transducteur est un transducteur à ondes acoustiques de volume, comprenant un matériau piézoélectrique inséré entre deux électrodes, au moins une des électrodes étant recouverte de la couche sensible.
- 20 5. Capteur chimique selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le transducteur est un transducteur à ondes de surface, comprenant un matériau piézoélectrique sur lequel sont déposées deux séries d'électrodes interdigitées, séparées par une surface (S) sur laquelle est déposée la couche sensible.
6. Capteur chimique selon la revendication 5, caractérisé en ce qu'il  
25 comprend un film mince de matériau piézoélectrique, la couche sensible étant déposée à la surface du film, de manière à générer des ondes acoustiques type ondes de Lamb.
7. Capteur chimique selon la revendication 5, caractérisé en ce que le transducteur comprend une couche intermédiaire (C1) entre la couche sensible (C) et le matériau piézoélectrique, dans laquelle sont confinées les ondes acoustiques.
- 30 8. Capteur chimique selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisé en ce qu'il comprend une couche intermédiaire (C2) située entre la couche sensible (C) et le transducteur, assurant la création d'interactions chimiques fortes entre la couche sensible et le transducteur.
9. Capteur chimique selon la revendication 8, caractérisé en ce que la  
35 couche (C2) comprend des silanes de formule générale  $R_nSiX_{n-4}$ , avec X groupement hydrolysable, R groupement organique non hydrolysable ayant des fonctions capables

de réagir avec les monomères utilisés pour obtenir le polymère réticulé, ladite couche (C2) favorisant l'adhérence de la couche (C) sur un substrat piézoélectrique.

10. Capteur chimique selon la revendication 8, caractérisé en ce que la couche (C2) comprend des composés de type RSH ou RS-SR' avec R et R' groupements organiques non hydrolysables ayant des fonctions capables de réagir avec les monomères utilisés pour obtenir le polymère réticulé, ladite couche (C2) favorisant l'adhérence de la couche (C) sur une électrode métallique.

11. Capteur chimique caractérisé en ce qu'il comprend l'association d'un capteur chimique selon l'une des revendications 2 à 10, et d'un capteur chimique comprenant un transducteur à ondes acoustiques et une couche (C') constituée d'un polymère hautement réticulé identique à celui de la couche (C) mais obtenu en l'absence d'entité (G').

12. Procédé de réalisation d'un capteur selon la revendication 11, caractérisé en ce qu'il comporte, à la surface d'un substrat (S) permettant la propagation d'ondes acoustiques :

- la réalisation, à travers un premier masque laissant libre une première zone (Z1) du substrat, d'un premier élément de matériau (I) à empreintes moléculaires ;
- la réalisation, à travers un deuxième masque laissant libre la deuxième zone (Z2) du substrat, d'un deuxième élément de matériau (II) réticulé en l'absence de molécule gabarit ;
- la réalisation de part et d'autre de chaque zone (Z1, Z2) de moyens inducteurs et/ou récepteurs d'onde acoustique.

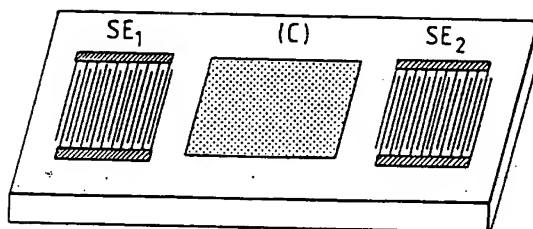
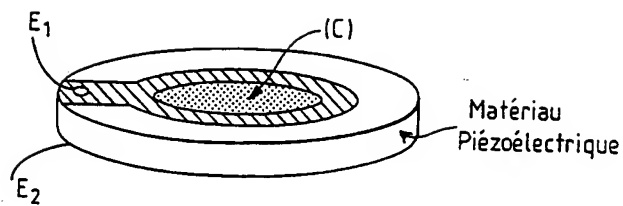
13. Procédé de réalisation d'un capteur selon la revendication 11, caractérisé en ce qu'il comporte les étapes suivantes :

- a) réalisation sur un substrat (S) permettant la propagation d'ondes acoustiques d'une alternance d'une première couche de résine (R1) pour photolithographie, d'une couche métallique (M1) et d'une deuxième couche de résine (R2) pour photolithographie ;
- b) élimination de la deuxième couche de résine dans une première zone (Z1) ;
- c) gravure de la couche métallique dans la première zone (Z1) ;
- d) attaque de la première couche de résine dans la première zone (Z1) et éventuellement du reste de la deuxième couche de résine ;



- e) mise à nu du substrat dans la première zone lors de l'attaque de la première couche de résine ;
- f) réalisation sur le substrat dans la première zone d'un premier élément (I) en matériau à empreintes moléculaires ;
- 5 g) réalisation d'une troisième couche de résine (R3) ;
- h) élimination de la troisième couche de résine (R3) dans une deuxième zone (Z2) ;
- i) gravure de la couche métallique dans la deuxième zone (Z2) ;
- j) attaque de la première couche de résine dans la deuxième zone et
- 10 éventuellement du reste de la troisième couche de résine ;
- k) mise à nu du substrat dans la deuxième zone lors de l'attaque de la première couche de résine ;
- l) réalisation sur le substrat dans la deuxième zone d'un deuxième élément (II) de matériau réticulé en l'absence de molécule gabarit ;
- 15 m) élimination de la couche métallique (M1) et de la première couche de résine (R1).
14. Procédé selon l'une des revendications 12 ou 13, caractérisé en ce que le deuxième élément (II) est en matériau de composition identique à celui du premier élément (I), mais il est polymérisé et réticulé en l'absence de molécule gabarit.
- 20 15. Procédé selon la revendication 13, caractérisé en ce qu'il comporte des étapes de réalisation supplémentaires de moyens inducteurs d'au moins une onde acoustique dans lesdites zones (Z1, Z2) du substrat.
16. Procédé selon la revendication 15, caractérisé en ce qu'il prévoit la réalisation de part et d'autre de chaque zone (Z1, Z2) de moyens
- 25 inducteurs/récepteurs d'ondes acoustiques.
17. Procédé selon la revendication 16, caractérisé en ce qu'il prévoit la réalisation de part et d'autre de chaque zone (Z1, Z2) d'électrodes conductrices (SE<sub>1</sub>, SE<sub>2</sub>, SE<sub>1</sub>', SE<sub>2</sub>').

1/6



2/6

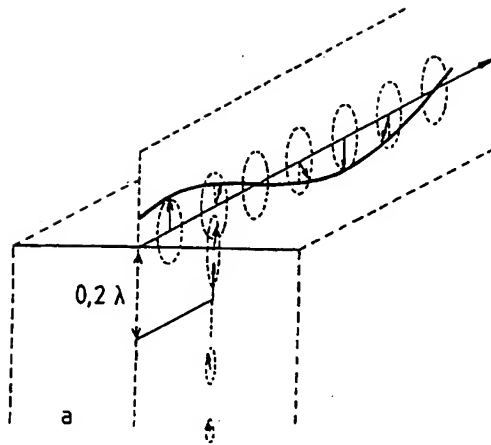


FIG. 2b

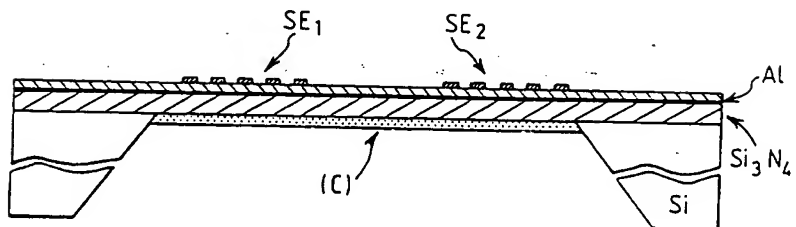


FIG. 3

3/6

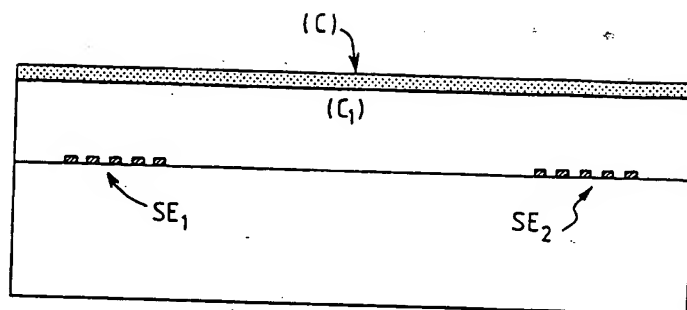


FIG. 4a

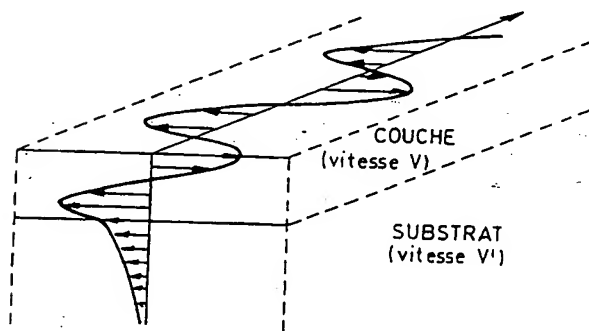


FIG. 4b

4/6

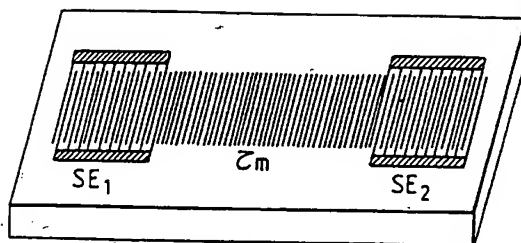


FIG. 5a

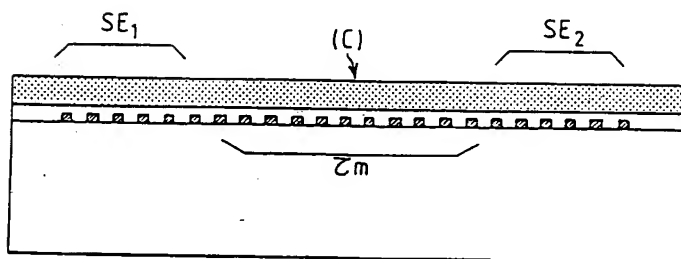


FIG. 5b

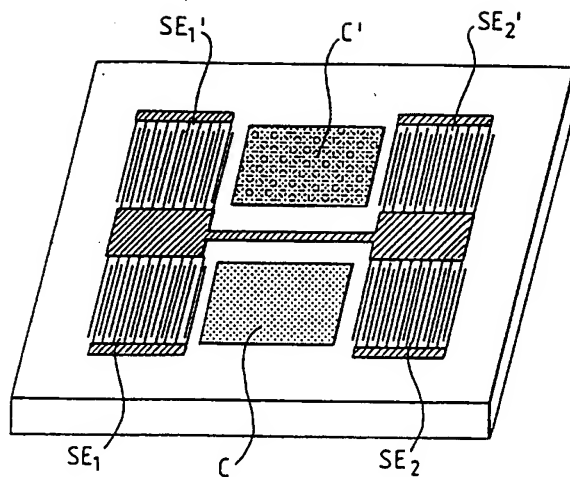


FIG. 6

6/6

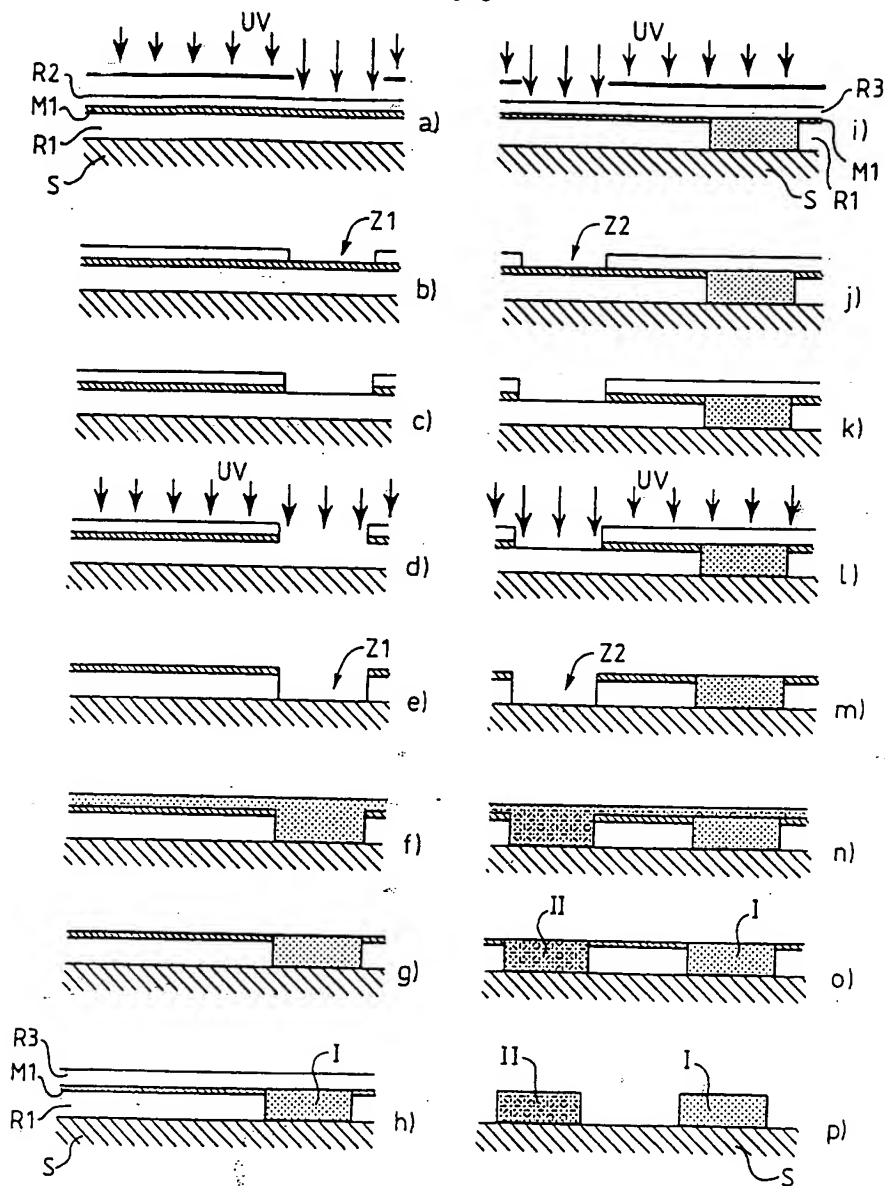


FIG. 7

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Int. l. Application No  
 PCT/FR 96/00267

 A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
 IPC 6 G01N29/00 G01N29/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

 Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
 IPC 6 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| X          | US,A,5 151 110 (BEIN THOMAS ET AL) 29 September 1992<br>see claims 1,4,5,7<br>---   | 1-3,5,8,<br>9         |
| A          | INTERFACE,<br>vol. 3, no. 4, 21 December 1994,<br>PENNINGTON NJ, USA,<br>pages 38-44, XP000495367<br>RICCO A J: "SAW CHEMICAL SENSORS"<br>see the whole document<br>--- | 1-8                   |
| A          | EP,A,0 564 070 (MARCONI GEC LTD) 6 October 1993<br>see column 2, line 2 - column 3, line 25<br>---<br>-/--  | 1-6                   |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"A" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

5 June 1996

Date of mailing of the international search report

04.07.96

 Name and mailing address of the ISA  
 European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2220 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tr. 31 651 epo nl,  
 Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Kouzelis, D



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Patent Application No.  
PCT/FR 96/00267

| C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |  |                       |
|--|--|-----------------------|
| Category   | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
| A  | SENSORS AND ACTUATORS B,<br>vol. B22, no. 1, 1 October 1994,<br>pages 37-45, XP000486464<br>PFEIFER K B ET AL: "POLYMER-COATED<br>SURFACE ACOUSTIC WAVE MONITORING OF CCL4<br>IN A STEAM REFORMING REACTOR"<br>see the whole document<br>--- | 1-8                   |
| A  | EP,A,0 542 469 (HEWLETT-PACKARD) 19 May<br>1993<br>see the whole document<br>-----   | 1,8                   |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In tional Application No  
PCT/FR 96/00267

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| US-A-5151110                              | 29-09-92            | US-A- 5224972              | 06-07-93            |
| EP-A-0564070                              | 06-10-93            | GB-A- 2265982              | 13-10-93            |
|   |                     | JP-A- 6018495              | 25-01-94            |
| EP-A-542469                               | 19-05-93            | US-A- 5283037              | 01-02-94            |
|   |                     | JP-A- 5240762              | 17-09-93            |
|   |                     | US-A- 5306644              | 26-04-94            |

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De : Internationale No

PCT/FR 96/00267

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 6 G01N29/00 G01N29/02

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 G01N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents  | no. des revendications visées |
|-----------|---|-------------------------------|
| X         | US,A,5 151 110 (BEIN THOMAS ET AL) 29<br>Septembre 1992<br>voir revendications 1,4,5,7<br>---   | 1-3,5,8,<br>9                 |
| A         | INTERFACE,<br>vol. 3, no. 4, 21 Décembre 1994,<br>PENNINGTON NJ, USA,<br>pages 38-44, XP000495367<br>RICCO A J: "SAW CHEMICAL SENSORS"<br>voir le document en entier<br>--- | 1-8                           |
| A         | EP,A,0 564 070 (MARCONI GEC LTD) 6 Octobre<br>1993<br>voir colonne 2, ligne 2 - colonne 3, ligne<br>25<br>---<br>-/-  | 1-6                           |

☒ Voir la liste du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

### \* Catégories spéciales de documents cités

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- \*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- \*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- \*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- \*A\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

5 Juin 1996

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

04.07.96

Lieu et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2220 HV Rijswijk  
Tél. (+31-70) 340-2040, Tlx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Kouzelis, D

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Di. de Internationale No  
PCT/FR 96/00267

| C.(note) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS |  |                               |
|--|--|-------------------------------|
| Catégorie                                      | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents   | no. des revendications visées |
| A  | SENSORS AND ACTUATORS B,<br>vol. B22, no. 1, 1 Octobre 1994,<br>pages 37-45, XP000486464<br>PFEIFER K B ET AL: "POLYMER-COATED<br>SURFACE ACOUSTIC WAVE MONITORING OF CCL4<br>IN A STEAM REFORMING REACTOR"<br>voir le document en entier<br>--- | 1-8                           |
| A  | EP,A,0 542 469 (HEWLETT-PACKARD) 19 Mai<br>1993<br>voir le document en entier<br>-----   | 1,8                           |

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De de Internationale No

PCT/FR 96/00267

| Document brevet cité<br>au rapport de recherche | Date de<br>publication | Membre(s) de la<br>famille de brevets | Date de<br>publication |
|---|------------------------|---------------------------------------|------------------------|
| US-A-5151110                                    | 29-09-92               | US-A- 5224972                         | 06-07-93               |
| EP-A-0564070                                    | 06-10-93               | GB-A- 2265982                         | 13-10-93               |
|   |                        | JP-A- 6018495                         | 25-01-94               |
| EP-A-542469                                     | 19-05-93               | US-A- 5283037                         | 01-02-94               |
|   |                        | JP-A- 5240762                         | 17-09-93               |
|   |                        | US-A- 5306644                         | 26-04-94               |